

可溶性有机物对玉米根部菲与芴吸着与吸收过程的影响

王 戎, 何杞双, 王 雁, 曹 军, 陶 澍, 彭 辉, 刘 煜, 蒙冰君

(北京大学城市与环境学院, 地表过程分析与模拟教育部重点实验室, 北京 100871)

摘 要:在水培玉米幼苗的暴露实验中,控制溶液中可溶性有机物(DOM)的浓度水平(0、0.5、1、2、5、10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),观察其对水培溶液中多环芳烃(芴与菲)生物有效性的影响。通过控制洗脱条件,将根部多环芳烃分为弱吸着(氯化钙提取)、强吸着(甲醇提取)与吸收(索氏提取)3种不同的形态。结果表明,短期暴露(4 d)后,培养液中多环芳烃浓度迅速下降至起始浓度的10%左右,玉米幼苗对菲的吸收强于对芴的吸收,而吸着量相似,大部分以强吸着态存在于根表。低浓度可溶性有机物(小于2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的加入有助于芴与菲在根表的吸着,浓度继续增大时,对吸着过程则产生抑制作用;吸收量随可溶性有机物浓度的升高而增大,逐渐趋于稳定。吸着与吸收总量在DOM浓度约为1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最大值,之后随DOM浓度增加而下降。

关键词:可溶性有机物;玉米;吸着;吸收;芴;菲

中图分类号:X171.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)01-0035-05

Impact of Dissolved Organic Matter on Sorption and Absorption of Fluorene and Phenanthrene to Maize Root

WANG Rong, HE Qi-shuang, WANG Yan, CAO Jun, TAO Shu, PENG Hui, LIU Yu, MENG Bing-jun

(College of Urban and Environmental Science, Laboratory for Earth Surface Processes, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Impact of dissolved organic matter on phyton-bioavailability of fluorene and phenanthrene to maize seedling was studied through hydroponic exposure experiments to simulate the plant uptake of fluorene and phenanthrene from the soil solution. Fluorene and phenanthrene combined with maize seedling's root were divided into three parts, weakly adsorbed, strongly adsorbed on root surface, and interior absorbed fraction in root tissues in this study. Fluorene and phenanthrene concentration of the culture solution was controlled at 253.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 244.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ respectively, with dissolved organic matter concentration of 0, 0.5, 1, 2, 5 and 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Fluorene and phenanthrene weakly adsorbed and strongly adsorbed on root surface were rinsed by calcium chloride and methanol in sequence and the interior absorbed fraction in root tissues were eluted by Soxhlet's apparatus with acetone and dichloromethane (1:1). After four days' exposure, fluorene and phenanthrene concentration in culture solution dropped to 8.29 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ and 8.55 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. With added dissolved organic matter concentration below 2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, sorption of fluorene and phenanthrene were improved when dissolved organic matter concentration increased. While dissolved organic matter concentration rose above 2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, sorption of fluorene and phenanthrene were inhibited. Steep increase of fluorene and phenanthrene concentration in maize root was observed at the front-end of the curve (concentration of dissolved organic matter $\leq 2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and then tended towards constant with 0.8 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ and 2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. Total amount of adsorbed and absorbed fluorene and phenanthrene reached maximum level at dissolved organic matter concentration of 1~2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and then decreased while more dissolved organic matter added in culture solution. Similar amount of fluorene and phenanthrene were adsorbed on root surface but more phenanthrene transported into root tissue, that mainly due to their hydrophobic properties.

Keywords: dissolved organic matter; maize; sorption; absorption; fluorene; phenanthrene

多环芳烃(PAHs)是有机物不完全燃烧时产生的挥发性碳氢化合物, 由于具有相对较强的挥发性和

持久性,在各种环境介质中广泛分布。由于部分多环芳烃具有致癌特性,其时空分布、生物毒性和有效性、人体暴露与风险评价等问题日益引起研究者的普遍关注。

多环芳烃可通过叶面吸收与根部吸收途径进入到植物体内^[1],后者为高分子组分进入植物的主要途径^[2]。Wild等在研究胡萝卜表皮和胡萝卜内部PAHs

收稿日期:2008-03-05

基金项目:国家自然科学基金(40773053);北京大学校长基金

作者简介:王 戎(1987—),本科生。E-mail:nevsaynevforever@163.com

通讯作者:曹 军 E-mail:caoj@urban.pku.edu.cn

含量的变化中^[3],发现内部 PAHs 浓度几乎不受外界影响,据此推断表皮和内部之间没有传输。此外,Wild 等通过 TPEM 技术,直接观察植物根部 PAHs 吸收和代谢过程,发现 PAHs 在根内部移动能力有限,较难向其他器官运输^[4]。

化合物在植物吸收过程中,首先与根际分泌物结合,进入细胞外胞壁内的孔道,这部分物质可以与外界溶液自由交换^[5],在本研究中定义为被根系吸着的组分^[6],其中结合较弱的组分(弱吸着态)可被盐溶液(CaCl_2)清洗下来,而强吸着态的组分需用非极性有机溶剂(如甲醇)进行洗脱^[6-7]。吸着态 PAHs 跨过质膜,进入细胞质通道后被定义为植物吸收态^[6]。

可溶性有机物(DOM)是土壤与水环境中生物化学作用非常活跃的部分,所具有的疏水基团可与土壤溶液中 PAHs 结合;DOM 同时具有亲水基团,可促进其与根表的结合。以往研究结果显示,DOM(天然可溶性有机物或表面活性剂)会增加 PAHs 的水溶性,促进 PAHs 在水相中的分配,降低 PAHs 的 K_{ow} 值^[8],从而对有机污染物的生物有效性产生显著影响^[9-15]。

本研究以暴露在固定浓度多环芳烃下的水培玉米幼苗为例,通过外加硬水腐植酸控制培养液中 DOM 浓度梯度,采取分步提取方法,测定根部芴与菲吸着与吸收量,观察 DOM 对芴与菲在植物根表吸着与吸收过程的影响。研究结果可为深入研究多环芳烃经根部吸收向植物体内部迁移过程提供理论依据。

1 材料方法

1.1 供试材料

供试玉米品种为中国农业大学开发研制的“三元集团怀研 10 号”。菲与芴标准物质购自 ACROS ORGANICS。供试 DOM 为硬水腐植酸(中国科学院化学研究所提供,有机碳含量为 35.52%,无机碳含量为 0%),主要成分为富里酸,含其他小分子量有机物,pH 6.5~7 的条件下易溶于水。

1.2 实验设计

玉米发芽后移入烧杯(1 L)中,在自然光照下培养,室温控制在 $(26 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,pH 测定值为 6.5~7,营养液采用 Hoagland 配方。玉米幼苗长至 25 cm 左右后进行暴露实验(15 株·组⁻¹,每个暴露水平设 3 个重复)。暴露实验中所用的培养液为芴、菲与 DOM 的混合水溶液,为防止芴和菲过饱和析出,根据溶解度计算出芴和菲的饱和浓度,将适量芴与菲用少量甲醇溶解后加入到培养液中,欲控制暴露浓度在 253.5 与

244.5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,由于配制过程中的挥发等损失,实测培养液中芴和菲的浓度分别为 115.78 与 99.97 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,DOM 浓度控制在 0、0.5、1、2、5、10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,暴露阶段不添加营养液,暴露时间为 4 d。此外设置 3 个空白组:玉米空白组中,PAHs 浓度与暴露组相同,DOM 浓度为 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;PAHs 和 DOM 空白组只有玉米;PAHs 空白组中有玉米,DOM 浓度为 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.3 芴和菲提取净化

暴露结束后采用 CaCl_2 与甲醇分级提取的方法^[6],测定新鲜根表吸着态多环芳烃含量。具体步骤为:①将整株玉米幼苗放到 500 mL 三角瓶中,加入 100.0 mL 0.01 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 溶液浸泡根部,室温下空气浴振荡 10 min ($150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$),提取液经 0.45 μm 玻璃纤维滤膜抽滤后取 28.4 mL,用大约等体积的正己烷分 3 次(25 mL·次⁻¹)进行液液萃取,萃取液浓缩到 1 mL 后上机测定;②将经过第一步处理后的玉米幼苗根部换用 20.0 mL 甲醇浸泡,室温下空气浴振荡 3 min ($150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)后,加入 180.0 mL 高纯水后经 0.45 μm 玻璃纤维滤膜抽滤,用比色管取 25.0 mL 滤液,用等体积正己烷分 3 次(25 mL·次⁻¹)进行液液萃取,萃取液浓缩到 1 mL 后上机测定。

取分级提取后的玉米幼苗根部,剪碎后进行冷冻干燥(3 d),之后进行索提(70 mL 丙酮与二氯甲烷混合溶液,体积比 1:1,80 $^\circ\text{C}$,提取 20 h),索提液旋蒸浓缩至约 1 mL,用 40 mL 正己烷全量转移至分液漏斗中进行磺化处理(分 3 次,分别加入浓硫酸 10、5、5 mL),之后用 50 mL 4%的 Na_2SO_4 溶液洗涤 2 次,最后用正己烷将有机相完全转移至茄形瓶中,旋转蒸发浓缩至 1 mL,经硅胶层析柱净化处理(25 mL 正己烷溶液+50 mL 2:3 二氯甲烷和正己烷混合液)后悬蒸浓缩到 1 mL 后上机测定。

1.4 芴、菲和 DOM 的分析测定

上述旋蒸浓缩样品中芴与菲的含量采用 GC-MS 测定(Agilent 5973I,HP-5ms 30m $\times$ 0.25 mm,ID 0.25 μm)。色谱条件:载气 He,恒流模式,流速 1 mL·min⁻¹。进样口温度 280 $^\circ\text{C}$,不分流进样,进样量 1 μL 。升温程序:初始温度 60 $^\circ\text{C}$,以 5 $^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温到 280 $^\circ\text{C}$,保留 20 min 至样品完全流出色谱柱。质谱条件:EI 电离源 70 eV,温度 246 $^\circ\text{C}$,选择离子(SIM)模式测定。

DOM 的测定选用美国 OI 公司生产的 TOC 分析仪(Aurora 1030W)。

实验中所用正己烷、二氯甲烷、丙酮等有机溶剂在使用前均经过重蒸馏以去除杂质;甲醇为色谱纯产

品;浓硫酸为分析纯产品;硅胶(100–200目)在450℃烘10h,置于广口瓶中后放入干燥器保存,使用前在130℃活化16h;无水硫酸钠在使用前450℃烘10h,保存于干燥器中;滤纸和棉花用丙酮、二氯甲烷混合溶液(体积比为1:1)80℃提取20h;玻璃纤维使用前在450℃下烧5h以去除有机杂质。

1.5 质量控制

采用基质加标的方式分别计算分级提取和索氏提取回收率,结果为FLU:87.5%;PHE:102.5%(分级提取吸着态+净化过程, $n=6$);FLU:38.3%;PHE:48.5%(索氏提取吸着态+净化过程, $n=3$)。经分析,损失主要来源于磺化过程。将索提后部分样品($n=3$)进行再次索提、净化、分析,提取量与第一次提取量之比小于3%。GC-MS分析中,每10个样品间加测一个标准溶液样品,进行响应因子的校正。

2 结果与讨论

2.1 培养液中芴/菲暴露浓度的变化

暴露结束时,测定了培养液中芴与菲的浓度,其表现为随机波动,且相对于起始浓度发生显著下降,平均浓度分别由最初的 $115.78\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $99.97\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降至 $(8.29\pm 1.24)\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(8.55\pm 3.09)\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (95%置信区间)。根部吸着与吸收芴的总量平均值为867.6ng,吸着与吸收菲总量平均值为985.1ng,仅占下降总量的1.16%~2.3%与1.4%~3.21%。Li在加入表面活性剂的小麦水培系统中观察到培养液中 ^{14}C 标记菲在24h内迅速发生转化,其中绝大部分被小麦吸收,部分转化为二氧化碳,还有少量降解为低分子挥发性有机物^[12]。因此,导致PAHs暴露浓度下降的原因中,除培养液中的降解,挥发与瓶壁吸附之外,进入玉米幼苗体内之后所发生的降解与代谢过程也不容忽略。

2.2 DOM对根表吸着态芴/菲的影响

借鉴以往研究手段^[6-7],采用不同强度提取剂的顺序提取方法将根系吸着态PAHs分为弱吸着态(氯化钙提取)与强吸着态(甲醇提取)两个组分。分析结果表明(图1A和B),芴与菲在根表的吸着量相似,大部分以强吸着态存在于根表。低浓度DOM($<2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的加入有助于芴与菲在根表的吸着,约在 $1\sim 2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的水平下达到最高吸着量;当DOM浓度大于 $2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,对吸着过程起抑制作用,当DOM浓度为 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,吸着量恢复到未加入DOM时的水平。

DOM同时具有亲水与疏水基团,加入到培养液

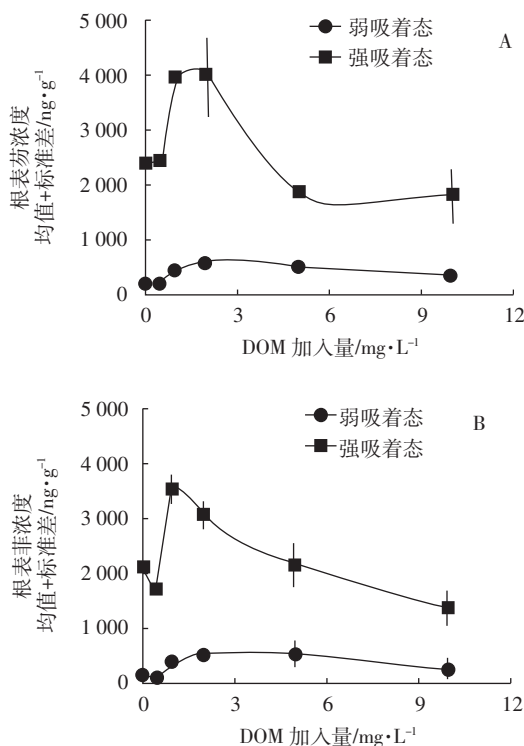


图1 DOM对玉米幼苗根吸着态芴(A)与菲(B)的影响

Figure 1 Impact of DOM on the concentration of adsorbed fluorene (A) and phenanthrene (B)

中后,一方面与液相中的PAHs结合,促进PAHs的水溶性,同时可能起到类似根际分泌物的作用,与PAHs结合后,携带其进入根表细胞外胞壁内孔道,导致根表吸着态含量上升。随DOM在培养液中浓度逐渐升高,部分可能发生絮凝现象,体积增大而无法进入孔道,与携带PAHs进入“自由空间”的载体(根际分泌物或起到类似根际分泌物作用的DOM)形成竞争关系,从而抑制PAHs在根表的吸着。

2.3 DOM对玉米幼苗吸收芴/菲的影响

吸着态PAHs跨过质膜进入细胞质通道后转化为根吸收态,这部分PAHs不能被溶剂洗脱,可采用索氏提取的方法获得^[6]。多环芳烃(PAHs)是一类重要的持久性污染物,具有致癌特性,因此在可食用植物体内的富集情况及其相关影响因素备受关注。分析结果显示,随DOM加入量的增加,根内PAHs的浓度当DOM $<5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时先呈现明显的上升趋势,但后期与吸着态的变化趋势有所不同,当DOM浓度上升到 $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,未观察到根内PAHs浓度具有显著的下降趋势,而是逐渐到达稳态(图2)。以往研究结果显示,植物对结构和分子量相似的化合物吸收量的高低与化合物的Kow呈正相关关系^[14-15],本次研究观察到

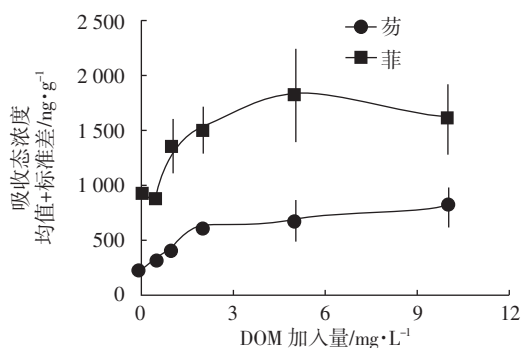


图 2 不同 DOM 控制水平下玉米幼苗根芴与菲的浓度

Figure 2 Concentration of absorbed fluorene and phenanthrene at various DOM levels

同样现象,在溶液中芴的浓度高于菲,但玉米幼苗对菲的吸收量明显高于芴。

Haitzer 在一篇关于 DOM 对持久性有机污染物对水生生物有效性影响的文献综述报告中指出,大部分情况下,DOM 的存在使得有机污染物生物有效性降低,但也有部分研究结果显示,在低浓度情况下(低于 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),DOM 可增强有机污染物的生物有效性^[13]。占新华等通过水培小麦试验研究了水溶性有机物(猪粪 DOM, 浓度 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)对植物吸收多环芳烃菲的影响,结果显示,DOM 的存在促进了植物根部对菲的吸收以及向植物地上部的转运^[11]。本研究中 DOM 加入量普遍低于 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 对植物吸收亦可起到促进作用,这与上文中提到的他人研究结果是一致的^[11,13]。4 d 暴露结束后测定根的生物量,新鲜样品的质量与冷冻干燥后的样品干重在不同 DOM 控制水平下均没有显著差别,因此稀释作用不是造成根内 PAHs 浓度差异的主要因素。Wild 等的研究表明,PAHs 进入到根表后,几乎不向内部迁移^[3-4]。以往的预备实验中测定了不同暴露浓度下茎叶部位的多环芳烃浓度,彼此之间不存在显著差异,因此体内迁移也不是造成根内 PAHs 浓度差异的主要因素。DOM 有可能通过影响根表皮细胞进入根内部的迁移能力或 PAHs 在根内部的代谢速率等过程而影响根部富集能力,其具体机制有待于进一步深入研究。

2.4 芴与菲在植物根部吸着与吸附形态的总量变化趋势与分布规律

玉米幼苗根部吸收、强吸着与弱吸着态芴与菲的分布情况类似,强吸着态>根吸收态>弱吸着态。随 DOM 加入量增加,强吸着组分所占比例有所下降,其他形态比例略有增加。3 种组分加和量在 DOM 浓度

约为 $1 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值,之后随 DOM 浓度上升而下降。图 3(A)表明,短期暴露条件下(4 d),芴在各个 DOM 浓度水平下吸着态浓度加和均显著高于吸收态浓度,其中大部分芴是以强吸着态存在于根表细胞外胞壁内的孔道中,吸着态芴所占百分比随 DOM 浓度的升高呈下降趋势,培养液中 DOM 浓度的增高有助于玉米幼苗对芴的吸收。菲的变化规律与芴类似,由于菲的疏水性强于芴,穿透根表细胞进入植物体内的能力更强,因而吸收/吸着的比例普遍高于芴(图 3B)。

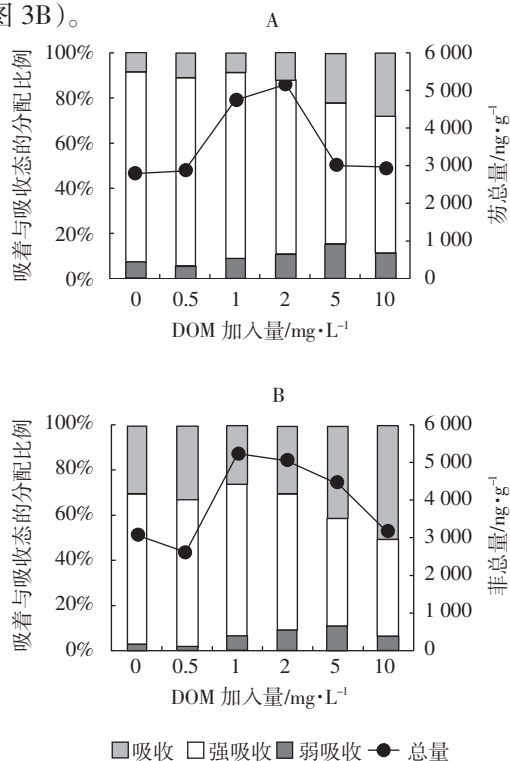


图 3 芴(A)与菲(B)各形态分布规律(柱状图,主坐标轴)与总量变化趋势(曲线图,次坐标轴)

Figure 3 Distribution(main axis)and total amount(vice axis)of three phases of fluorene(A)and phenanthrene(B)

3 结论

玉米幼苗水培实验中,外加可溶性有机物在 $<2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内可促进芴与菲在根表面的吸着,浓度继续增大时则体现为对吸着行为的抑制;根部吸收量随外加可溶性有机物浓度的增加而增加;吸收与吸着总量在 DOM 浓度为 $1 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时达到最大值;根表吸着量普遍高于进入植物根内部的吸收量;弱吸着量低于强吸着量;芴和菲在玉米幼苗根表的吸着行为相似,玉米幼苗对菲的吸收显著高于芴。

参考文献:

- [1] Michael S. McLachlan. Framework for the interpretation of measurements of SOC in plants[J]. *Environ Sci Technol*, 1999, 33(11):1799-1804.
- [2] Fismes J, Perrin-Ganier C, Empereur-Bissonnet P, et al. Soil-to-root translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2002, 31(5):1649-1656.
- [3] Wild S R, Berrow M L, McGrath S P, et al. Polynuclear aromatic hydrocarbons in crops from long term sewage sludge amended field experiments[J]. *Environ Pollut*, 1992, 76:23-31.
- [4] Edward W, John D, Jonathan L B, et al. Direct observation of organic contaminant uptake, storage, and metabolism within plant roots[J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39(10):3695-3702.
- [5] 贝 克, 著. 祝宗岭, 译. 植物体内的运输现象[M]. 北京: 科学出版社, 1981. 21-22.
- Berk D A. Transport phenomena in Plants [M]. Beijing: Science Press, 1981. 21-22.
- [6] 焦杏春, 陈素华, 沈伟然, 等. 水稻根系对多环芳烃的吸着与吸收[J]. 环境科学, 2006, 27(4):760-764.
- JIAO Xing-chun, CHEN Su-hua, SHEN Wei-ran, et al. Sorption and absorption of PAHs to rice roots[J]. *Environment Science*, 2006, 27(4):760-764.
- [7] Schwab A P, Al-Assi A A, Banks M K. Adsorption of naphthalene onto plant roots[J]. *Environ Qual*, 1998, 27:220-224.
- [8] 占新华, 周立祥, 黄 楷. 水溶性有机物对菲的表现溶解度和正辛醇/水分配系数的影响[J]. 环境科学学报, 2006, 26(1):105-110.
- ZHAN Xin-hua, ZHOU Li-xiang, HUANG Kai. Effect of dissolved organic matter(DOM) on the apparent water solubility and the N-octanol/water partition coefficient of phenanthrene[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(1):105-110.
- [9] 张小璐. 土壤有机碳对 DDT 生物有效性的影响[D]. 北京: 北京大学, 2006.
- ZHANG Xiao-lu. Impact of soil organic carbon to bioavailability of DDT [D]. Beijing: Peking University, 2006.
- [10] 焦杏春. 多环芳烃在水稻体内的分配关系[D]. 北京: 北京大学, 2005. 50-61.
- JIAO Xing -chun. Partition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rice plants[D]. Beijing: Peking University, 2006. 50-61.
- [11] 占新华, 周立祥, 万寅婧, 等. 水溶性有机物对植物吸收菲的影响及其机制研究[J]. 环境科学, 2006, 27(9):1884-1888.
- ZHAN Xin-hua, ZHOU Li-xiang, WAN Yin-jing, et al. Impact of dissolved organic matter on plant uptake of phenanthrene and its mechanism[J]. *Environmental Science*, 2006, 27(9):1884-1888.
- [12] Li Y, Yediler A, Ou Z Q, et al. Effects of a non-ionic surfactant (Tween-80) on the mineralization, metabolism and uptake of phenanthrene in wheat-solution-lava microcosm[J]. *Chemosphere*, 2001, 45(1):67-75.
- [13] Haitzer M, Hoss S, Traunpurgner W, et al. Effects of dissolved organic matter (DOM) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms[J]. *Chemosphere*, 1998, 37(7):1335-1362.
- [14] Briggs G G, Bromilow R H, Ewans A A. Relationship between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionized chemicals by Barley[J]. *Pestic Sci*, 1982, 13:495-504.
- [15] 凌婉婷, 朱利中, 高彦征, 等. 植物根对土壤中 PAHs 的吸收及预测[J]. 生态学报, 2005, 25(9):2320-2325.
- LING Wan-ting, ZHU Li-zhong, GAO Yan-zheng, et al. Root uptake and its prediction model of PAHs from soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(9):2320-2325.

致谢: O·I·Analytical 为本实验提供 Aurora1030W 型 TOC 分析仪, 提高了 TOC 分析的效率, 此外在本次实验过程中, 许多同学与老师曾给予帮助, 特一并在此致谢!